



PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : A61K 31/38, 31/40, 31/415 A61K 31/44, 31/50, 31/505 A61K 31/52, 31/54</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 94/06423 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 31. März 1994 (31.03.94)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE93/00892 (22) Internationales Anmeldedatum: 14. September 1993 (14.09.93) (30) Prioritätsdaten: P 42 30 755.4 14. September 1992 (14.09.92) DE P 43 24 571.4 17. Juli 1993 (17.07.93) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): SCHE- RING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müller- strasse 178, D-13353 Berlin (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : STIEF, Christian [DE/ DE]; Rehmenbreiten 6, D-30966 Hemmingen 1 (DE). STROHMEYER, Torsten [DE/DE]; Südwestkorso 60A, D-12161 Berlin (DE). FORSSMANN, Wolf-Georg [DE/ DE]; Blücherstr. 5, D-30175 Hannover (DE). MEYER, Markus [DE/DE]; Schiffhornfeld 12, D-30655 Hanno- ver (DE). SCHULZ-KNAPPE, Peter [DE/DE]; Frobö- sestr. 4, D-30519 Hannover (DE). TAHER, Akmal [ID/ ID]; Bangka II/16, Djakarta 12710 (ID).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht. <i>~ U.S. Patent No. 5,891,904</i></p>
<p>(54) Title: NOVEL USE OF INHIBITORS OF PHOSPHODIESTERASE IV (54) Bezeichnung: NEUE VERWENDUNG VON INHIBITOREN DER PHOSPHODIESTERASE IV (57) Abstract The invention relates to the use of inhibitors of phosphodiesterase IV to modulate the motility and peristalsis of the hollow organs of the urogenital and gastrointestinal tract. (57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft die Verwendung von Inhibitoren der Phosphodiesterase IV zur Modulation der Motilität und Peristaltik der Hohlorgane des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FI	Finnland	MR	Mauritanien
AU	Australien	FR	Frankreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GA	Gabon	NE	Niger
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	HU	Ungarn	PL	Polen
BR	Brasilien	IE	Irland	PT	Portugal
BY	Belarus	IT	Italien	RO	Rumänien
CA	Kanada	JP	Japan	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SD	Sudan
CG	Kongo	KR	Republik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slowakischen Republik
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CN	China	LU	Luxemburg	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LV	Lettland	TC	Togo
CZ	Tschechischen Republik	MC	Monaco	UA	Ukraine
DE	Deutschland	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DK	Dänemark	ML	Mali	UZ	Usbekistan
ES	Spanien	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Neue Verwendung von Inhibitoren der Phosphodiesterase IV

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Inhibitoren der Phosphodiesterase IV (sPDE IV) zur Herstellung von Arzneimitteln zur Modulation der Motilität und Peristaltik der Hohlorgane des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes sowie deren Verwendung als Hilfsstoffe für Kontrastmitteluntersuchungen des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes.

Die physiologische Informationsübertragung zur Relaxation (Erschlaffung) glatter Muskelzellen wird durch Überträgerstoffe des Blutes (Hormone) oder der Nerven (Neurotransmitter) bewirkt. Diese Neurotransmitter bewirken innerhalb der glatten Muskelzelle einen Anstieg von cAMP und cGMP, was eine Relaxation zur Folge hat. cAMP und cGMP wiederum werden durch Phosphodiesterasen (PDE) abgebaut. Inhibitoren der PDE wiederum vermindern den Abbau von cAMP und cGMP, was zu einem Anstieg dieser Moleküle innerhalb der Zelle und dadurch zu einer Relaxation der glatten Muskelzelle führt. Dieses ist beispielsweise beschrieben von Torphy, Udem in Thorax 46, 512, 1991.

Aus dieser Veröffentlichung und aus TIPS 12, 19, 1991 sowie Br. J. Pharmacol. 104, 471, 1991 ist weiterhin eine Unterscheidung der PDE in verschiedene Unteresterasen, die spezifischen Phosphodiesterasen (sPDE), bekannt. Dabei werden fünf verschiedene sPDE unterschieden, die in den einzelnen Organen und Organsystemen unterschiedlich verteilt sind und je nach Verteilung in der Zelle eine verschieden starke Wirksamkeit besitzen. In den genannten Veröffentlichungen sowie in J. Histochem. Cytochem. 35, 72, 1987, J. Urol. 139, 1988 und J. Pharmacol. Exp. Therap. 247, 630, 1988 wird auch das Vorkommen der verschiedenen Isoenzyme in diversen Geweben diskutiert, unter anderem auch das Vorkommen von sPDE I im Ureter (Harnleiter).

Nieren- oder Harnleiterkoliken besitzen nach Altwein und Jacobi, Urologie, Enke Verlag Stuttgart, 1987, den Charakter einer Volkskrankheit. Der Kolikschmerz entsteht durch einen intrarenalen Druckanstieg durch den gestörten Urintransport

- 2 -

sowie durch lokale Spasmen, die den spontanen Abgang eines Steines behindern. Es kommt zu einer Implaktierung des Steines, die die Gefahr der Stauung und der damit verbundenen schwerwiegenden Komplikationen bewirkt. Wird bei Steinpatienten kein Spontanabgang eventuell mit Hilfe von Pharmaka erreicht, muß man sich zu einem invasiven Vorgehen entschließen.

Eine Behandlung dieser Erkrankungen erfolgt derzeit symptomatisch durch starkwirkende Analgetika zur Schmerzlinderung. Eine medikamentöse Therapie der Ursachen einer Kolik ist bisher nicht möglich, da keine die glatte Muskulatur relaxierenden Substanzen ohne begleitende unerwünschte, gravierende systemische Nebenwirkungen (Blutdruckabfall, Übelkeit) bekannt sind.

Aufgabe der Erfindung ist daher die Bereitstellung hochwirksamer spezifischer Therapeutika zur Modulation der Motilität und Peristaltik der Hohlorgane des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes, die keine Nebenwirkungen verursachen. Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß durch die Inhibition der sPDE IV die Modulation der Motilität und Peristaltik der Hohlorgane des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes beeinflusst wird. Eine gezielte Hemmung dieses Isoenzym wirkt auf die glatte Muskulatur relaxierend und ermöglicht die Behandlung von Erkrankungen des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes, bei denen die Relaxation der glatten Muskulatur erwünscht ist, wie beispielsweise die Behandlung von Nieren- und Uretererkrankungen, die Behandlung von Erkrankungen der Gallenwege oder Störungen des Magen-Darmtraktes wie Störungen im Sinne des Colon irritabile oder Magenkrämpfe. Beispielsweise wirkt eine gezielte Hemmung dieses Isoenzym auf Tonus und Peristaltik des partiell oder völlig okkludierten Harnleiters relaxierend. Durch die Relaxation des Ureters kann der Steinabgang gefördert und beschleunigt und eine Behandlung von Koliken ermöglicht werden. Auf Grund der relaxierenden Wirkung auf die glatte Muskulatur können Inhibitoren der sPDE IV in Kombination mit den üblichen Kontrastmitteln zur Verbesserung der Diagnose der vorstehend genannten Erkrankungen verwendet werden. Die Verabreichung der

- 3 -

Inhibitoren der SPDE IV kann kurz vor, nach oder gleichzeitig mit einer Gabe von Röntgen-, Ultraschall- oder NMR-Kontrastmitteln erfolgen.

Gegenstand der Erfindung ist daher die Verwendung von spezifischen Inhibitoren der SPDE IV zur Herstellung von Arzneimitteln zur Modulation der Motilität und Peristaltik der Hohlorgane des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes, SPDE IV-Inhibitoren enthaltende Arzneimittel für die genannte Aufgabe sowie deren Verwendung als Hilfsstoffe bei Diagnostika. Bevorzugte Inhibitoren der SPDEIV sind beispielsweise:

- 1.) 1,3-Dibutyl-3,7-dihydro-7-(2-oxopropyl)-1H-purin-2,6-dion (Denbufylline, BRL 30892),
 - 2.) 4-[(3-Butoxy-4-methoxyphenyl)methyl]-2-imidazolidinon (Ro 20-1724),
 - 3.) 4-[3-(Cyclopentyloxy)-4-methoxyphenyl]-2-pyrrolidinon (Rolipram, ZK 62711),
 - 4.) 5,6-Diethoxybenzo[b]thiophen-2-carbonsäure (Tibenelast, LY 186655),
 - 5.) 3-Ethyl-1-(3-nitrophenyl)-2,4(1H,3H)-chinazolin-2-dion (Nitraqzone, TVX 2706),
 - 6.) 6-(3,6-Dihydro-6-methyl-2-oxo-2H-1,3,4-thiadiazin-5-yl)-1-(3,4-dimethoxybenzoyl)-1,2,3,4-tetrahydro-4,4-dimethylchinolin (EMD 54622),
 - 7.) 1-Ethyl-4-[(1-methylethyliden)hydrazino]-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-5-carbonsäure ethylester (Etazolate),
 - 8.) N-Hydroxy-5,6-dimethoxy-benzo[b]thiophen-2-carboximidamid (Org 30029),
 - 9.) 2-Amino-6-methyl-4-propyl-(1,2,4)triazolo[1,5-a]pyrimidin-5(4H)-on (ICI 63197) oder
 - 10.) 6-[4-(Difluoromethoxy)-3-methoxyphenyl]-3(2H)-pyridazinon (Zardaverine)
- sowie deren pharmakologisch verträglichen Salze.

- 4 -

Die Verbindungen sind bekannt als wirksam z.B. bei Erkrankungen der Atemwege, zur Entzündungshemmung oder bei Erkrankungen des Zentralnervensystems.

Als bevorzugter sPDE IV-Inhibitor ist razemisches oder optisch aktives Rolipram zu betrachten, dessen Herstellung nach US-Patent No. 4.193.626 oder nach WO 92/06077 erfolgen kann.

Bereits die Applikation geringster Dosierungen eines spezifischen Inhibitors z.B. des sPDE IV-Inhibitors Rolipram in einer Dosierung von 10^{-7} mol/l (Fig. 4) relaxiert den Ureter, ohne daß nennenswerte Effekte an anderen Organen, insbesondere an Gefäßen, zu beobachten sind. Dies wurde an humanen Ureter-Streifen in vitro gezeigt.

Zu den gleichen Ergebnissen führten Untersuchungen am lebenden Tier (Kaninchen). Auch hier wurde der Harnleiter durch intravenöse Gaben von sPDE IV-Inhibitoren wie Rolipram weitgestellt, ohne daß Nebenwirkungen wie Blutdruckabfall auftraten.

Im Gegensatz dazu führte die Gabe des unspezifischen PDE-Hemmers Papaverin zu ausgeprägten Kreislaufnebenwirkungen.

Unsere Untersuchungsergebnisse zeigen, daß spezifische Phosphodiesterase-IV-Inhibitoren und insbesondere razemisches oder optisch aktives Rolipram zur Modulation der Motilität und Peristaltik des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes verwendet werden können. Durch die Relaxation der glatten Muskulatur wird beispielsweise der Abgang von Steinen erleichtert und Koliken werden verhindert. Beispielsweise können sie durch die Relaxation des Ureters zur Beschleunigung und Erleichterung des Abganges von Nieren- und Ureter-Steinen verwendet werden sowie Koliken verhindern oder beenden.

Zur Herstellung der Arzneimittel wird neben den üblichen Hilfsmitteln, Träger- und Zusatzstoffen eine wirksame Dosis der Inhibitoren der sPDE IV oder deren Salze in den oben genannten Indikationen verwendet.

- 5 -

Die pharmakologisch verträglichen Salze werden in üblicher Weise durch Neutralisation der Basen mit anorganischen oder organischen Säuren erhalten. Als anorganische Säuren kommen zum Beispiel Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure oder Bromwasserstoffsäure, als organische Säuren zum Beispiel Carbon-, Sulfo- oder Sulfonsäuren wie Essigsäure, Weinsäure, Milchsäure, Propionsäure, Glykolsäure, Malonsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Gerbsäure, Succinsäure, Alginsäure, Benzoesäure, 2-Phenoxybenzoesäure, 2-Acetoxybenzoesäure, Zimtsäure, Mandelsäure, Zitronensäure, Äpfelsäure, Salicylsäure, 3-Aminosalicylsäure, Ascorbinsäure, Embonsäure, Nicotinsäure, Isonicotinsäure, Oxalsäure, Aminosäuren, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, 2-Hydroxyethansulfonsäure, Ethan-1,2-disulfonsäure, Benzolsulfonsäure, 4-Methylbenzolsulfonsäure oder Naphthalin-2-sulfonsäure in Frage.

Die Dosierung der Wirkstoffe kann je nach Verabfolgungsweg, Alter, Gewicht des Patienten, Art und Schwere der zu behandelnden Erkrankung und ähnlichen Faktoren variieren.

Die tägliche Dosis kann als einmal zu verabreichende Einzeldosis oder unterteilt in 2 oder mehrere Tagesdosen gegeben werden und entspricht im allgemeinen der Dosis, die von der jeweiligen Verbindung als wirksame Dosis bekannt ist.

Die tägliche Gesamtdosis von Rolipram beträgt üblicherweise 0,001 - 10 mg/pro Person, vorzugsweise 0,01 - 5 mg/pro Person. Wird (-) Rolipram als Wirkstoff verabfolgt, so beträgt die tägliche Dosis vorzugsweise 0,001 - 5 mg. Durch mehrtägige Auftitration kann die Gesamtdosis jedoch bei Bedarf signifikant erhöht werden.

Als Applikationsform kommen orale, intravenöse, intraluminäre Zubereitungen in Frage. Letztere sind vor allem Lösungen und Zubereitungen wie sie auch für die parenterale Applikation Anwendung finden.

Zubereitungen zur parenteralen Applikation können in separaten

- 6 -

Dosiseinheitenformen wie z. B. Ampullen oder Vials vorliegen. Vorzugsweise werden Lösungen des Wirkstoffes verwendet, bevorzugt wässrige Lösungen und vor allem isotonische Lösungen, aber auch Suspensionen. Diese Injektionsformen können als Fertigpräparat zur Verfügung gestellt werden oder erst direkt vor der Anwendung durch Mischen der wirksamen Verbindung, zum Beispiel des Lyophilisats, gegebenenfalls mit weiteren festen Trägerstoffen, mit dem gewünschten Lösungs- oder Suspensionsmittel zubereitet werden.

Zur oralen Anwendung kommen die üblichen galenischen Zubereitungsformen wie Tabletten, Dragees, Kapseln, dispergierbare Pulver, Granulate, wässrige oder ölige Suspensionen, Sirupe, Säfte oder Tropfen.

Feste Arzneiformen können inerte Hilfs- und Trägerstoffe enthalten, wie z.B. Calciumcarbonat, Calciumphosphat, Natriumphosphat, Lactose, Stärke, Mannit, Alginate, Gelatine, Guar-gummi, Magnesium- oder Aluminiumstearat, Methylcellulose, Talkum, hochdisperse Kieselsäuren, Silikonöl, höhermolekulare Fettsäuren (wie Stearinsäure), Gelatine, Agar-Agar oder pflanzliche oder tierische Fette und Öle, feste hochmolekulare Polymere (wie Polyäthylenglykol); für orale Applikation geeignete Zubereitungen können gewünschtenfalls zusätzliche Geschmacks- und/oder Süßstoffe enthalten.

Flüssige Arzneiformen können sterilisiert sein und/oder gegebenenfalls Hilfsstoffe wie Konservierungsmittel, Stabilisatoren, Netzmittel, Penetrationsmittel, Emulgatoren, Spreitmittel, Lösungsvermittler, Salze zur Regelung des osmotischen Drucks oder zur Pufferung und/oder Viskositätsregulatoren enthalten.

- 7 -

Derartige Zusätze sind zum Beispiel Tartrat- und Citrat-Puffer, Ethanol, Komplexbildner (wie Äthylendiamin-tetraessigsäure und deren nicht-toxische Salze). Zur Regelung der Viskosität kommen hochmolekulare Polymere in Frage wie beispielsweise flüssiges Polyethylenoxid, Carboxymethylcellulosen, Polyvinylpyrrolidone, Dextrane oder Gelatine. Feste Trägerstoffe sind zum Beispiel Stärke, Lactose, Mannit, Methylcellulose, Talkum, hochdisperse Kieselsäuren, höhermolekulare Fettsäuren (wie Stearinsäure), Gelatine, Agar-Agar, Calciumphosphat, Magnesiumstearat, tierische und pflanzliche Fette, feste hochmolekulare Polymere (wie Polyethylenglykol).

Ölige Suspensionen für parenterale oder topische (in diesem Falle intraureterale) Anwendungen können vegetabile synthetische oder semisynthetische Öle wie beispielsweise flüssige Fettsäureester mit jeweils 8 bis 22 C-Atomen in den Fettsäureketten, zum Beispiel Palmitin-, Laurin-, Tridecyl-, Margaritin-, Stearin-, Arachin-, Myristin-, Behen-, Pentadecyl-, Linol-, Elaidin-, Brasidin-, Eruca- oder Ölsäure, die mit ein- bis dreiwertigen Alkoholen mit 1 bis 6 C-Atomen wie beispielsweise Methanol, Ethanol, Propanol, Butanol, Pentanol oder deren Isomere, Glycol oder Glycerol verestert sein. Derartige Fettsäureester sind beispielsweise handelsübliche Diglycole, Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat, Isopropylstearat, PEG 6-Caprinsäure, Capryl/Caprinsäureester von gesättigten Fettalkoholen, Polyoxyethylenglyceroltrioleate, Ethyl-oleat, wachsartige Fettsäureester wie künstliches Entenbürzeldrüsenfett, Kokosfettsäure-isopropylester, Ölsäureoleylester, Ölsäuredecylester, Milchsäureethylester, Dibuthylphthalat, Adipinsäurediisopropylester, Polyol-Fettsäureester u. a. Ebenso geeignet sind Silikonöle verschiedener Viskosität oder Fettalkohole wie Isotridexylalkohol, 2-Octyldodecanol, Cetylstearyl-Alkohol oder

- 8 -

oleylalkohol, Fettsäuren wie beispielsweise Ölsäure. Weiterhin können vegetabile Öle wie Rizinusöl, Mandelöl, Olivenöl, Sesamöl, Baumwollsaatöl, Erdnußöl oder Sojabohnenöl Verwendung finden. Die genannten Stoffe haben zudem die Eigenschaften eines Spreitmittels, das heißt es erfolgt eine besonders gute Verteilung auf der Haut.

Als Lösungsmittel, Gelbildner und Lösungsvermittler kommen in Frage Wasser oder mit Wasser mischbare Lösungsmittel. Geeignet sind zum Beispiel Alkohole wie beispielsweise Ethanol oder Isopropylalkohol, Benzylalkohol, 2-Octyldodecanol, Polyethylenglykole, Phthalate, Adipate, Propylenglykol, Glycerin, Di- oder Tripropylenglykol, Wachse, Methylcellosolve, Cellosolve, Ester, Morpholine, Dioxan, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Tetrahydrofuran, Cyclohexanon etc.

Als Filmbildner können Celluloseether verwendet werden, die sich sowohl in Wasser als auch in organischen Lösungsmitteln lösen bzw. anquellen können und nach dem Trocknen eine Art Film bilden, wie beispielsweise Hydroxypropylcellulose, Methylcellulose, Ethylcellulose oder lösliche Stärken.

Mischformen zwischen Gel- und Filmbildnern sind durchaus ebenfalls möglich. Hier kommen vor allem ionische Makromoleküle zur Anwendung, wie z.B. Natriumcarboxymethylcellulose, Polyacrylsäure, Polymethacrylsäure und deren Salze, Natriumamylopektinsemiglykolat, Alginsäure oder Propylenglykol-Alginat als Natriumsalz, Gummi arabicum, Xanthan-Gummi, Guar-Gummi oder Carrageenan.

Als weitere Formulierungshilfsmittel können eingesetzt werden: Glycerin, Paraffin unterschiedlicher Viskosität, Triethanolamin, Collagen, Allantoin, Novantisolsäure, Parfümöle.

Auch die Verwendung von Tensiden, Emulgatoren oder Netzmitteln kann zur Formulierung notwendig sein, wie zum Beispiel von Na-Laurylsulfat, Fettalkoholethersulfaten, Di-Na-N-lauryl- β -iminodipropionat, polyoxyethyliertes Rizinusöl oder Sorbitan-

- 9 -

Monooleat, Sorbitan-Monostearat, Cetylalkohol, Lecithin, Glycerinmonostearat, Polyoxyethylenstearat, Alkylphenolpolyglykolether, Cetyltrimethylammoniumchlorid oder Mono-/Dialkylpolyglykolether-orthophosphorsäure-monoethanolaminsalze.

Stabilisatoren wie Montmorillonite oder kolloidale Kieselsäuren zur Stabilisierung von Emulsionen oder zur Verhinderung des Abbaus der aktiven Substanzen wie Antioxidantien, beispielsweise Tocopherole oder Butylhydroxyanisol, oder Konservierungsmittel, wie p-Hydroxybenzoesäureester, können ebenfalls zur Zubereitung der gewünschten Formulierungen gegebenenfalls erforderlich sein.

Zur Förderung der Penetration enthalten intraureterale Formulierungen vorzugsweise organische, gut verträgliche Lösungsmittel wie Ethanol, Methylpyrrolidon, Polyethylenglykol, Oleylalkohol, Octanol, Linolsäure, Triacetin, Propylenglykol, Glycerin, Solketal oder Dimethylsulfoxid.

Die Herstellung, Abfüllung und die Verschließung der Präparate erfolgt unter den üblichen antimikrobiellen und aseptischen Bedingungen. Auch für topischen beziehungsweise transdermalen Einsatz erfolgt eine Abpackung möglichst in separaten Dosiseinheiten zur Erleichterung der Handhabung, auch hier wie bei parenteralen Formen gegebenenfalls aus Stabilitätsgründen durch separate Abpackung der Wirkstoffe beziehungsweise deren Kombinationen als Lyophilisat, gegebenenfalls mit festen Trägerstoffen, und den erforderlichen Lösungsmitteln etc.

Beispiel 1 - Injektionslösung

50 mg Rolipram werden mit 750 mg NaCl in destilliertem Wasser gelöst, mit 1N HCl auf pH 3,7 eingestellt und mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt und in 0,5 ml-Ampullen abgepackt.

- 10 -

Beispiel 2 - Lösung zur topischen Applikation

Aus 500 mg Rolipram, 2 ml Isopropylmyristat und 10 ml Ethanol wird eine Lösung zur topischen Applikation bereitet und zu Dosiseinheiten von jeweils 2 ml abgepackt.

Die Wirksamkeit der Arzneimittel für die erfindungsgemäße Lehre wird durch folgende pharmakologischen Untersuchungen belegt:

Frisch bei der Operation entnommener humaner Ureter wird in kleine Streifen geschnitten (ca. 3 x 10 mm). Diese werden dann in ein Bad mit einer Nährlösung installiert, die das Überleben der Organstreifen gewährleistet. Durch ein Ankoppeln der Organstreifen an einen Meßfühler können Längenveränderungen des Organstreifens registriert werden und so Wirkungen von Medikamenten, die in die Organbad-Nährlösung gegeben werden, anhand der Längenänderung (Zu- oder Abnahme) des Organstreifens untersucht werden. Zu Versuchsbeginn werden die Organstreifen mit einem hierzu geeigneten Standardmedikament z. B. Noradrenalin kontrahiert. Nach eingetretener Kontraktion der Organstreifen wird nun in ansteigender Dosierung (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} etc. mol/l) ein Inhibitor einer spezifischen Phosphodiesterase in die Organbädlösung gegeben und die dadurch ausgelöste Relaxation gemessen. Die gewonnenen Ergebnisse sind auf den Gesamtorganismus im wesentlichen übertragbar, da humanes Gewebe verwandt wurde und die untersuchten Stoffwechselvorgänge im Gesamtorganismus schneller ablaufen und daher die Medikamente noch schneller wirken.

In Fig. 1 bis Fig. 5 sind die Ergebnisse dieser Organbadversuche dargestellt.

Fig. 1 zeigt den relaxierenden Effekt von kumulativ ansteigenden Konzentrationen von Papaverin, einem unspezifischen Phosphodiesterase-Inhibitor, auf humane, mit 30 mM KCl vorkontrahierte Ureter-Streifen. Die Kurve zeigt die Mittelwerte von Messungen an jeweils 3 bis 7 Ureter-Streifen.

Fig. 2 zeigt den relaxierenden Effekt von kumulativ ansteigenden Konzentrationen von Quazinon, einem Inhibitor der

- II -

sPDE III, auf humane, mit 80 mM KCl vorkontrahierte Ureterstreifen. Die Kurve zeigt die Mittelwerte von Messungen an jeweils 3 bis 6 Ureter-Streifen.

Fig. 3 zeigt den relaxierenden Effekt von kumulativ ansteigenden Konzentrationen von Zaprinast, einem Inhibitor der sPDE V, auf humane, mit 80 mM KCl vorkontrahierte Ureterstreifen. Die Kurve zeigt die Mittelwerte von Messungen an jeweils 3 bis 6 Ureter-Streifen.

Fig. 4 zeigt den relaxierenden Effekt von kumulativ ansteigenden Konzentrationen von Rolipram, einem Inhibitor der sPDE IV, auf humane, mit 80 mM KCl vorkontrahierte Ureterstreifen. Die Kurve zeigt die Mittelwerte von Messungen an jeweils 4 bis 7 Ureter-Streifen.

Fig. 5 zeigt einen Vergleich der relaxierenden Wirkung von Rolipram auf renale und koronare Arterienstreifen.

Die Versuche zu Fig. 5 wurden analog zu den Untersuchungen an Ureterstreifen durchgeführt und belegen in eindeutiger Weise die spezifische relaxierende Wirkung auf das Uretergewebe, während das renale Gefäßsystem überhaupt nicht beeinflusst wird.

Der Nachweis, ob eine Verbindung für den erfindungsgemäßen Zweck geeignet ist, d.h. ein Inhibitor der sPDE IV ist, erfolgt nach bekannten Methoden, wie z.B. beschrieben von Galwan et al., Arch. Pharmacol. 1990, 342, 221-227 oder Nicholson, Br. J. Pharmacol., 1989, 79, 889-897, beispielsweise nach folgender allgemeiner Methode:

Frisches, intraoperativ gewonnenes Gewebe wird homogenisiert und dann ultrazentrifugiert. Anschließend wird der Überstand abpipettiert und chromatographiert. Von den 100 Fraktionen von 70 bis 1000 mM (millimolar) werden dann je 5 Ansätze von 30 µl der Enzympräparation hergestellt; jede Enzympräparation einer Fraktion wird mit a) radioaktiv markiertem cAMP, b) radioaktiv markiertem cGMP, c) radioaktiv markiertem cAMP plus Calcium plus Calmodulin, d) radioaktiv markiertem cGMP plus Calcium plus Calmodulin, e) radioaktiv markiertem cGMP plus Calcium

- 12 -

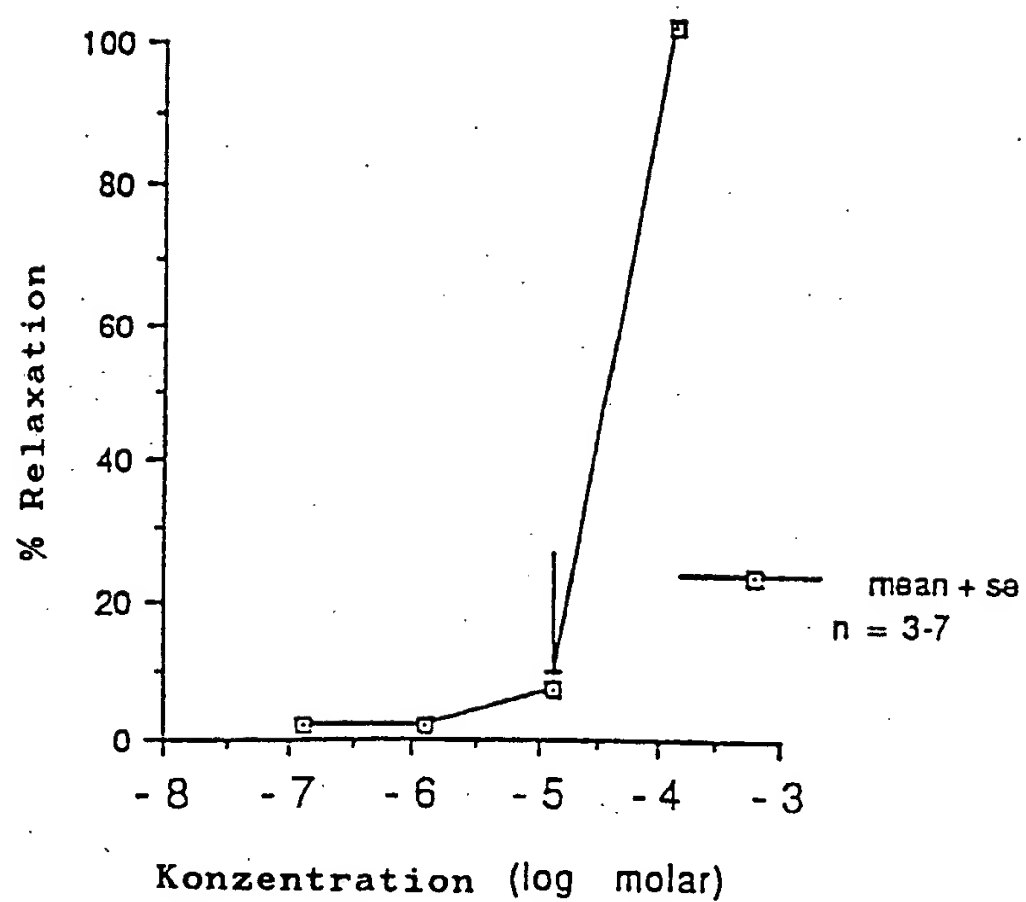
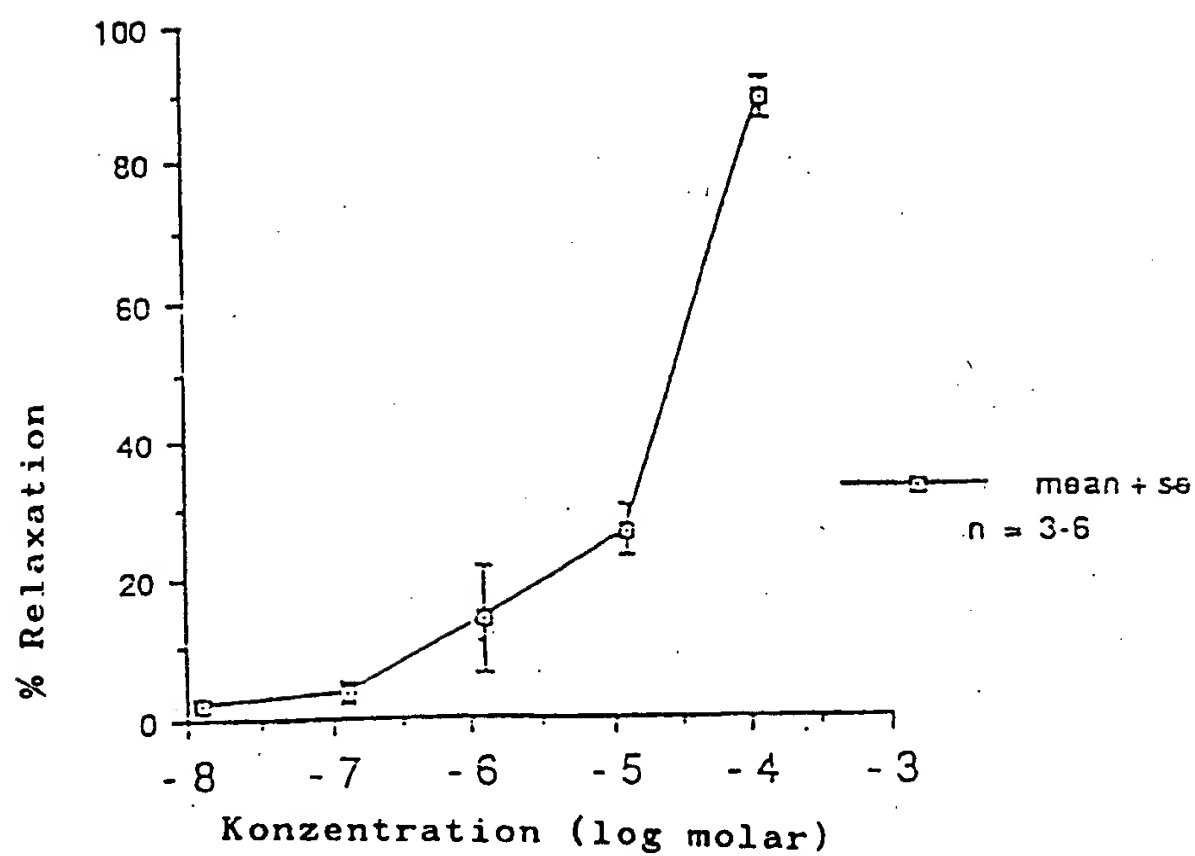
plus Calmodulin oder e) radioaktiv markiertem cAMP plus cGMP plus Calcium plus Calmodulin versetzt. Nach Inkubation und Beendigung der Reaktion sowie erneuter Zentrifugation wird die Radioaktivität der Proben gemessen. Die Bestimmung der Radioaktivität erlaubt die Berechnung der Enzymaktivität in pmol/ml x min. Die Auftragung der Aktivitätskurve erlaubt die Identifikation von Fraktionen, bei denen die Phosphodiesteraseaktivität besonders hoch ist. Die Phosphodiesteraseaktivität eines jeden Peaks zeigt eine unterschiedliche Zusammensetzung bezüglich der Aktivität der 5 verschiedenen Ansätze. Diese spezielle Zusammensetzung der Phosphodiesteraseaktivität läßt eine Zuordnung zu einer spezifischen Phosphodiesterase (sPDE) zu. Ein Inhibitor einer sPDE ist nun diejenige Substanz, deren Konzentration, die nötig ist, um 50% der Substrathydrolyse zu hemmen (IC_{50}), bei der betreffenden Peakfraktion, die die spezifische Phosphodiesterase enthält, um mindestens 20 mal kleiner ist als bei anderen Peakfraktionen. Dazu werden wiederum, wie oben beschrieben, Enzympräparationen hergestellt. Vor der Inkubation der Enzymansätze nach a) bis e) der Peakfraktionen wird aber nun die zu testende Verbindung zugesetzt. Die erneute Bestimmung und Auftragung der Enzymaktivität erlaubt dann gemäß der oben aufgeführten Definition die Identifikation einer Substanz als Inhibitor der spezifischen Phosphodiesterase.

- 13 -

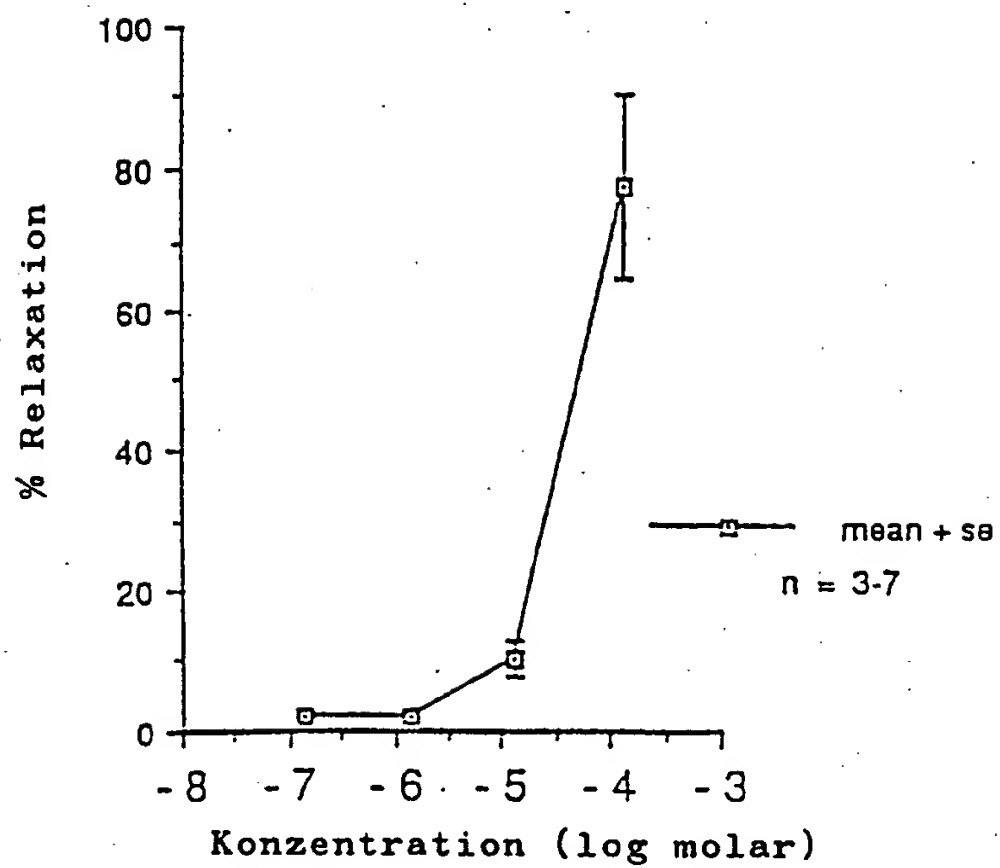
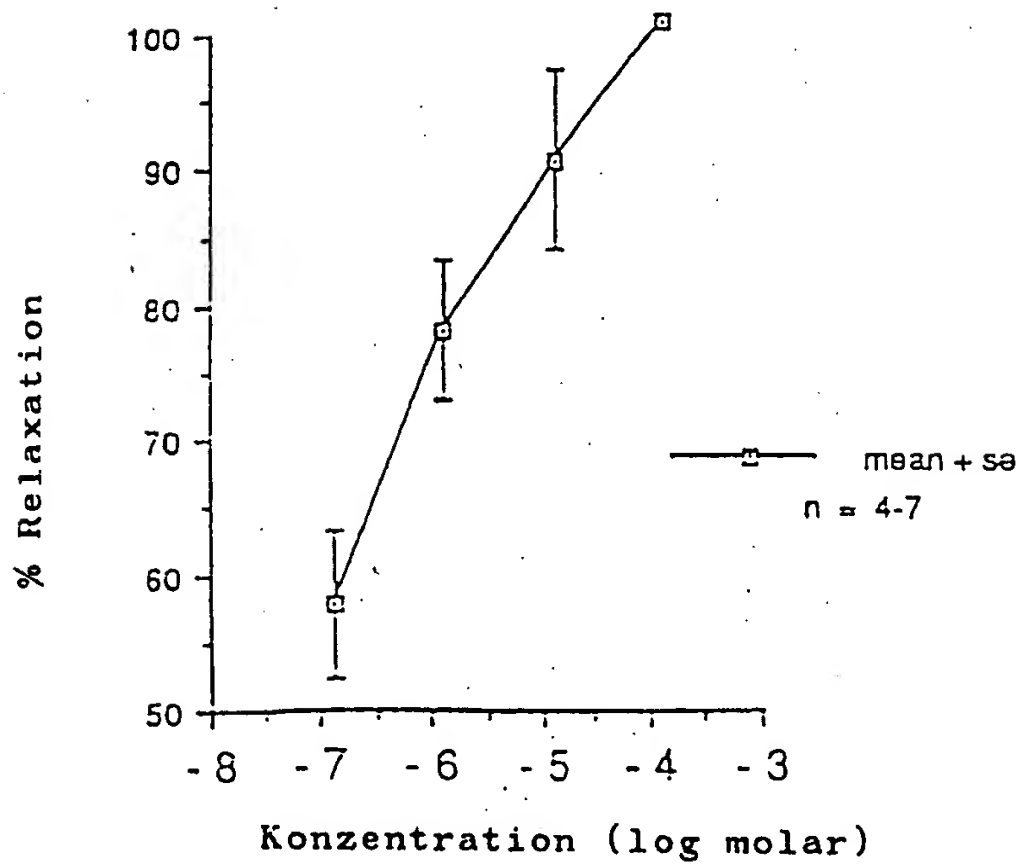
Patentansprüche

1. Verwendung von Inhibitoren der Phosphodiesterase IV oder deren Salze zur Herstellung von Arzneimitteln zur Modulation der Motilität und Peristaltik der Hohlorgane des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes.
2. Verwendung nach Anspruch 1 zur Behandlung von Nieren-, Harn- oder Gallensteinen.
3. Verwendung nach Anspruch 2 zur Behandlung von Nieren-, Harnleiter- oder Gallenkoliken.
4. Verwendung von razemischem oder optisch aktivem Rolipram nach Anspruch 1 - 3.
5. Arzneimittel zur Modulation der Motilität und Peristaltik der Hohlorgane des Urogenital- und Gastrointestinaltraktes enthaltend eine therapeutisch wirksame Menge von Inhibitoren der Phosphodiesterase IV oder deren Salze.
6. Verwendung von Inhibitoren der Phosphodiesterase IV oder deren Salze als Hilfsstoffe für Diagnostika.

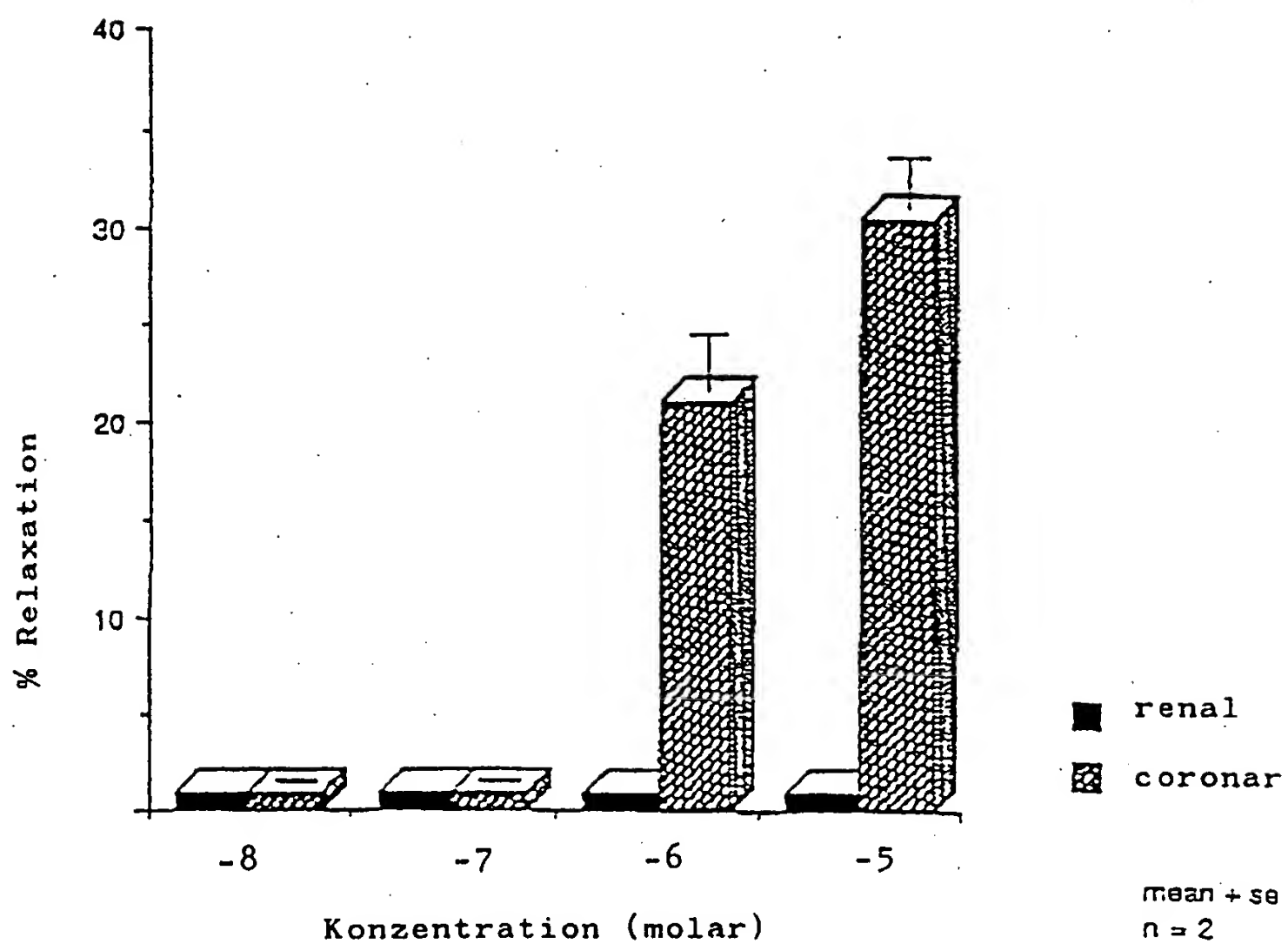
I/3

Fig. 1Fig. 2

2/3

Fig. 3Fig. 4

3/3

Fig. 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No
PCT/DE 93/00892

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 5 A61K31/38 A61K31/40 A61K31/415 A61K31/44 A61K31/50
 A61K31/505 A61K31/52 A61K31/54

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 5 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCE vol. 12, no. 1, January 1991 pages 19 - 27 NICHOLSON, C.D. ET AL 'DIFFERENTIAL MODULATION OF TISSUE FUNCTION AND THERAPEUTIC POTENTIAL OF SELECTIVE INHIBITORS OF CYCLIC NUCLEOTIDE PHOSPHODIESTERASE ISOENZYMES' cited in the application	5
A	see the whole document --- -/--	1-4,6

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☐ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 December 1993

Date of mailing of the international search report

23. 12. 93

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mair, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In ational Application No
PCT/DE 93/00892

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	THE JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS vol. 247, no. 2 , November 1988 pages 630 - 634 WEISS, R.M. ET AL 'INSULIN ACTIVATION OF CYCLIC AMP PHOSPHODIESTERASE IN INTACT URETERAL SEGMENTS' cited in the application	5
A	see the whole document ---	1-4,6
A	THE TOHOKU JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE vol. 151, no. 2 , February 1987 pages 201 - 204 MORITA, T. ET AL 'THE TIME COURSE OF CHANGES IN FORCE AND CYCLIC AMP LEVELS PRODUCED BY ISOPROTERENOL AND FORSKOLIN IN ISOLATED RABBIT DETRUSOR MUSCLE' see the whole document -----	1-6

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 93/00892

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 5 A61K31/38 A61K31/40 A61K31/415 A61K31/44 A61K31/50
A61K31/505 A61K31/52 A61K31/54

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 5 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCE Bd. 12, Nr. 1, Januar 1991 Seiten 19 - 27 NICHOLSON, C.D. ET AL 'DIFFERENTIAL MODULATION OF TISSUE FUNCTION AND THERAPEUTIC POTENTIAL OF SELECTIVE INHIBITORS OF CYCLIC NUCLEOTIDE PHOSPHODIESTERASE ISOENZYMES' in der Anmeldung erwähnt	5
A	siehe das ganze Dokument --- -/--	1-4,6

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☐ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- * "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- * "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- * "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- * "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Begegnung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- * "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

* "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

* "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

* "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

* "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

10. Dezember 1993

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

23. 12. 93

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mair, J

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 93/00892

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	THE JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS Bd. 247, Nr. 2 , November 1988 Seiten 630 - 634 WEISS, R.M. ET AL 'INSULIN ACTIVATION OF CYCLIC AMP PHOSPHODIESTERASE IN INTACT URETERAL SEGMENTS' in der Anmeldung erwähnt	5
A	siehe das ganze Dokument ---	1-4,6
A	THE TOHOKU JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE Bd. 151, Nr. 2 , Februar 1987 Seiten 201 - 204 MORITA, T. ET AL 'THE TIME COURSE OF CHANGES IN FORCE AND CYCLIC AMP LEVELS PRODUCED BY ISOPROTERENOL AND FORSKOLIN IN ISOLATED RABBIT DETRUSOR MUSCLE' siehe das ganze Dokument -----	1-6